Ueber die Benedict'sche Methode zum Zuckernachweise im Harne.

■ ■ ■

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfasst und einer

hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Wilhelm Wimmer
aus Prag.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

■ ■ ■

München 1917.
RUDOLF MÜLLER & STEINICKE.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München.

Referent: Herr Prof. Dr. von Tappeiner.

Von den verschiedenen Methoden zum qualitativen und quantitativen Nachweisen von Traubenzucker im Harn beruhen die einen auf physikalischen, die anderen auf chemischen Grundlagen. Die meisten dieser auf Grund chemischer Umsetzung ausgeführten Nachweise stützen sich auf die Fähigkeit des Traubenzuckers, in alkalischer Lösung Metalloxyde zu reduzieren. Als Metalloxyd findet bei Trommer, Bang und Fehling Kupfersulfat Verwendung; zur Herbeiführung der nötigen Alkaleszenz dient ein Hydroxyd. Die Lösung, die zum quantitativen Nachweise von Zucker im Harne nach Fehling dient, setzt sich aus zwei Komponenten zusammen, die unmittelbar vor Gebrauch zu gleichen Teilen gemischt werden. Die erste Komponente ist eine Lösung von reinstem Kupfersulfat in destilliertem Wasser, und zwar 34,639 gr in 500 ccm Wasser. Die zweite Komponente ist eine stark alkalische Seignettesalzlösung und wird hergestellt, indem man 173 gr Tartarus natronatus (Seignettesalz) in 400 ccm destill. Wasser löst, und 100 ccm einer Natronlauge hinzufügt, die 516 gr Natriumhydrat auf 1000 ccm dest. Wasser enthält. Setzt man einige Tropfen Zuckerlösung zu einigen Kubikzentimetern der Mischung dieser beiden Lösungen und erhitzt zum Sieden, so wird das Kupferoxyd zu rotem Kupferoxydul (Cu_2O) reduziert.

Die auf dieser Reaktion beruhende quantitative Zuckerbestimmung nach Fehling wird folgendermaßen angestellt:

Man mißt 20 ccm Fehling'sche Lösung mittels Pipette in eine Kochflasche (Erlenmeyerkolben) ab, erhitzt zum Sieden, fügt aus einer Bürette den — entsprechend dem ungefähren Zuckergehalt verdünnten — Harn zu, und kocht nochmals auf. Diejenige Menge Harn, die auf einmal zugesetzt, die blaue Farbe der Lösung nach dem Aufkochen gerade zum Verschwinden bringt, dient zur Berechnung des Zuckergehaltes.

Beispiel: Angenommen wir hätten, 18,5 ccm Zuckerlösung zur Reduktion von 20 ccm Fehling'scher Lösung verbraucht. Da 20 ccm Kupferlösung genau durch 0,1 gr Dextrose reduziert werden, so enthalten die verbrauchten 18,5 ccm Zuckerlösung 0,1 gr Dextrose. 100 ccm Zuckerlösung enthielten dann $\frac{0{,}1 \cdot 100}{18{,}5} = 0{,}54\%$ Zucker

Dieser Methode haften jedoch einige Mängel an. Um den Zuckergehalt genauer zu bestimmen, ist eine größere Zahl von Titrationen erforderlich, zumal die Harnmenge auf einmal zugefügt werden muß. Dadurch muß dann auch eine entsprechend große Menge Harn zur Verfügung stehen, und zwar namentlich dann, wenn infolge eines geringeren Zuckergehalts eine stärkere Verdünnung unzulässig ist. Da ferner die Farbe des entstehenden Niederschlags, nämlich orange, die Komplementärfarbe zu blau bildet, so ist der

Endpunkt der Titrierung, der durch Entfärbung der Lösung gekennzeichnet wird, häufig nur ungenau zu bestimmen, da eben die Entscheidung schwer fällt, ob die Flüssigkeit selbst noch blau ist, oder nur so erscheint. Abgesehen hievon ist die gebrauchsfertige Fehling'sche Mischung gar nicht, die Seignettesalz-Natronlaugelösung nur begrenzt haltbar. Zur Behebung dieser Fehlerquellen sind viele Versuche gemacht worden die Fehling'sche Methode zu verbessern. Diese Versuche liefen hauptsächlich dahinaus eine haltbare Lösung zu erhalten, dadurch daß das Hydroxyd durch ein Carbonat ersetzt wurde.

So hat Soldaini im Jahre 1876 eine Lösung von 15 gr bas. kohlensaures Kupferoxyd und 416 gr Kaliumbicarbonat in 1400 ccm Wasser vorgeschlagen, in dem Bestreben eine Licht-, Luft- und hitzebeständige Lösung zu erhalten.

Ost hat später angegeben, daß die Soldainische Lösung erst dann durchaus beständig gegen Kochen und Eindampfen wäre, wenn sie folgendermaßen zusammengesetzt sei: 23,5 gr Kupfervitriol, 250 gr Kaliumcarbonat und 100 gr Kaliumbicarbonat werden in einem Liter Wasser gelöst. Daß Kaliumsalze zur Lösung verwendet werden hängt damit zusammen, daß bei ihnen die Lösungsverhältnisse für Kupfer bessere sind.

Auch Striegler hat eine Modifikation der Soldainischen Lösung angegeben.

Im Jahre 1906 hat Bang angegeben, daß das Cu_2O bei Gegenwart von Kaliumrhodanid (KCNS) sich als Kupferrhodanür (CuCNS) ausscheidet, wenn keine fixen Alkalien, sondern nur Carbonate in der Lösung enthalten sind, wie es bei der Soldainischen Lösung und deren Modifikation der Fall ist. Er versetzte also die Soldainische Lösung mit KCNS und bei der Reduktion schied sich statt des roten Kupferoxyduls das weiße Kupferrhodanür aus. Aufgrund seiner Versuche hat Bang für vorteilhaft gefunden, die übliche Menge von 250 gr K_2CO_3 im Liter beizubehalten dagegen die Bicarbonatmenge bis auf 50 gr zu verringern. Die Menge von 200 gr KCNS im Liter wurde gewählt, damit bei der Reduktion sämtliches Kupfer als Kupferrhodanür in Lösung bleibt, somit kein Niederschlag entsteht, der die Bestimmung des Endpunktes der Reaktion erschwert. Diese Menge reicht aus, wenn von einer Kupfermenge 12,5 gr ($CuSO_4 + 5H_2O$) im Liter enthalten sind.

Somit enthält die Bang'sche Lösung in 2 Litern:

25 gr Cuprun sulfuric. crist. puriss.
500 „ Kalium carbonic.
400 „ „ rhodanatum
100 „ „ bicarbonic.

Ueber die Herstellung der Lösung macht Bang folgende Angaben: es hat sich als besonders vorteilhaft bewährt, zuerst die 100 gr Bicarbonat in 1000 ccm Wasser zu lösen, was auch bei Zimmertemperatur rasch, in einigen Minuten, geht. Die übrigen Salze lösen sich dann, nachher zugesetzt, augenblicklich auf. Jetzt

wird die Kupferlösung zugesetzt. Es ist zu empfehlen, besonders wenn man rasch seine Lösungen verbraucht 166,67 gr $CuSO_4 + 5H_2O$ in Wasser zu lösen und auf 1 Liter zu ergänzen; 150 ccm dieser Lösung werden dann bei Zimmertemperatur mit der Pipette der schon bereiteten Salzlösung zugesetzt, wonach man durch leises Schütteln die Flüßigkeiten mischt. Nach einigen Minuten, wenn die schwache CO_2-Entwicklung vorbei ist, ergänzt man auf 2 Liter, schüttelt gut durch und filtriert gleich. Diesen von Bang selbst gegebenen Vorschriften empfiehlt es sich genau nachzukommen. Anderenfalls geht eine reichere CO_2-Entwicklung vor sich und es bildet sich ein stärkerer Bodensatz. Grave, der die Bang'sche Lösung zur kolorimetrischen Traubenzuckerbestimmung nach Autenrieth verwendet hat, fand zwischen der gekauften und der selbstbereiteten Lösung einen Unterschied im Farbton und zwar so, daß die gekaufte Lösung durch Selbstreduktion und noch mehr bei der Reduktion mit zuckerhaltigem Harn sowohl Farbenintensität, wie Farbton änderte, während die selbstbereitete Lösung ihren ursprünglichen Ton behielt. Selbstreduktion fehlte vollständig. Es ist nun leicht möglich, daß diese Punkte, die Grave bei der Traubenzuckerbestimmung mit dem Kolorimeter ja als besonders störend empfinden mußte, auch bei der Titration zu Fehlern Anlaß geben können.

Während bei den bisherigen quantitativen Methoden für Zuckernachweis im Harn der Zusatz des Kupfersulfats, so gewählt werden muß, daß nur soviel Kupfersalz zugesetzt werden darf, als von anwesendem Zucker reduziert werden kann, und daher bei jeder Analyse eine Reihe von Titrationen ausgeführt werden muß, setzt man bei Bang das Kupferoxydsalz im Ueberschusse zu und bestimmt diesen Ueberschuß durch Reduktion mit Hydroxylaminsulfat. Die Hydroxylaminlösung hat dabei folgende Zusammensetzung: In 2 Litern ist enthalten 6,5 gr Hydroxylaminsulfat und 200 gr Kalium rhodanatum.

Sämtliche Substanzen müssen chemisch rein sein. Das Kupfersulfat und das Hydroxylamin sind auf der Analysenwage abzuwägen.

Zur Ausführung der Bestimmung mißt man 50 ccm der Kupferlösung mittels Pipette in eine Kochflasche ab, fügt 10 ccm verdünnten Harn hinzu und kocht 3 Minuten. Dann kühlt man rasch auf Zimmertemperatur ab und titriert mit der Hydroxylaminlösung, bis die blaue Farbe verschwunden ist. Die Werte für den Zuckergehalt findet man in einer von Bang ausgearbeiteten Tabelle. Die blaue Farbe der Lösung geht bei der Rücktitration häufig von blau durch grün in ein beständiges gelb über. Dann ist es allerdings etwas schwieriger den Endpunkt genau zu bestimmen. Im übrigen ist die Methode bequem und gibt gute Resultate. Bang selbst sagt im Hinblick auf die Nachprüfung von Jessen-Hansen, der das Verfahren als gut und bequemer als andere bezeichnet, daß bei genauer Befolgung der Vorschriften, wie 3 Minuten langem Kochen (Bestimmung der Zeit mit einer Sanduhr), Abkühlung auf Zimmertemperatur und Titrierung bei gewöhnlicher Schnelligkeit, die Fehler

ganz gering sein müssen.

Im Jahre 1909 hat Benedikt eine neue Methode der Zuckerbestimmung im Harne ausgearbeitet, die in Amerika vielfach verwendet wird.

C. Myers hat in Nr. 27 der Münchener med. Wochenschrift Jahrgang 1913 darauf hingewiesen.

Fußend auf den bereits besprochenen Versuchen, und gestützt auf eine große Zahl eigener Beobachtungen, dahin gehend, daß Traubenzucker, ebenso wie andere Zuckerarten durch die Hydroxyde der Alaktimetalle stärker zersetzt werden als durch deren Carbonate, und daß bei Verwendung des Carbonats an Stelle des Hydroxyds die Kupferlösungen zum Zuckernachweis empfindlicher werden, stellte Benedikt ebenfalls die Alkalität der Fehling'schen Lösung mit Carbonat her. Ferner ersetzte Benedikt das Seignettesalz der Fehling'schen Lösung, das Cu (OH_2) in Lösung halten soll, durch Natriumcitrat. Da ein Gemenge von Kupfersulfat, Carbonat und Natriumcitrat haltbar ist, kann man mit einer einzigen Lösung auskommen, während zur Titration nach Fehling 2 Lösungen, die das $CuSO_4$ einerseits und die der Lauge und des Seignettesalzes andererseits, nötig sind.

Die Zusammensetzung des Benedikt'schen Zuckerreagens ist: 17,3 gr Kupfersulfat, 173 gr Natriumcitrat, 100 gr wasserfreies (resp. 200 gr cristallisiertes) Natriumcarbonat in 1 Liter Wasser.

Die Herstellung dieser Lösung geschieht in der Weise, daß man das Kupfersulfat genau abwägt und in 100—150 ccm dest. Wasser löst. Die übrigen Bestandteile löst man ev. unter Erwärmen in ca. 800 ccm Wasser, filtriert und mischt dieselben unter fortwährendem Umschütteln nach dem Erkalten, und ergänzt das Volumen auf 1000 ccm. Nach Benedicts Angabe ist es zweckmäßig, zuerst das Natriumcarbonat, gegebenenfalls unter Erwärmen zu lösen und dann die übrigen Substanzen hinzuzufügen, zu filtrieren und nach dem Erkalten die gleichfalls abgekühlte Kupferlösung dazuzumischen. Die fertige Lösung ist von klarer, blauer Farbe mit einem Stich ins grünliche.

Diese Lösung dient zum qualitativen Nachweis von Zucker im Harn. Die Anwendung geschieht in der Weise, daß man von dieser Lösung 5 ccm in ein Reagensglas bringt, 0,5 ccm der zu prüfenden Lösung zugibt, 1—2 Minuten stark kocht, und dann erkalten läßt. Ist Zucker vorhanden, so entsteht ein roter Niederschlag (im Harn auch gelb, resp. grün) und zwar bildet er sich bei Zuckergehalt unter 0,3% erst beim Erkalten.

Die Gesichtspunkte, die Benedict bei der Ausarbeitung des qualitativen Nachweises von Zucker im Harn gewann, übertrug er nun auch auf eine quantitative Methode. Schon bei der Besprechung der Titration nach Fehling zur quantitativen Bestimmung war darauf hingewiesen, daß der rote Niederschlag des Kupferoxyduls im durchfallenden Licht die Komplementärfarbe von orange, nämlich blau durchläßt. Hierdurch kann die schon farblose

Flüssigkeit noch blau erscheinen, wodurch Fehler bedingt sind. Benedict setzte daher wie Bang dem Reagens Kaliumrhodanid zu, wodurch bei der Reduktion weißes Cuprorhodanid ausfällt und der Endpunkt der Titration sicherer bestimmbar ist. Seine zur quantitativen Traubenzuckerbestimmung angegebene Lösung enthält im Liter 18 gr Cuprum sulf. crist. puriss., 100 gr Natrium carb. anhydr., 200 gr Natrium citricum, 125 gr Kalium sulfocyanat. und 5 ccm einer 5% Ferrocyankalium-Lösung. Das Kupfersulfat ist auf der Analysenwage abzuwägen in 100—150 ccm dest. Wassers zu lösen und kalt unter fortwährendem Umschütteln mit der Lösung der übrigen Substanzen ca. 800 ccm zu mischen. Es ist zweckmäßig zuerst das Natr. carb. anhydr. gegebenenfalls unter Erwärmung zu lösen, die übrigen Substanzen nebst der Ferrocyankalium-Lösung hinzuzufügen, zu filtrieren und dann die Kupferlösung dazuzumischen. Die zum Liter aufgefüllte Lösung ist klar, von blauer Farbe mit einem leicht grünem Ton.

Zur Ausführung der Bestimmung mißt man 25 ccm der angegebenen Lösung in eine Kochflasche (Erlenmeyerkolben) und gibt nach kurzem Erwärmen auf einem Asbestnetz 5—10 gr Natr. carb. anhydr. nebst etwas pulverisiertem Bimstein dazu. Durch das vorherige Erwärmen vermeidet man, daß die zugefügte Soda und der Bimstein einen festen Niederschlag gibt. Um sich die Mühe des jedesmaligen Abwägens zu ersparen, kann man eine vorher abgewogene Menge Natroncarbonat gegebenenfalls schon mit Bimstein vermischt (auf 10 gr Natrium eine gute Messerspitze Bimstein) mittels eines 5—10 gr fassenden Löffels abmessen und zugeben. Der Bimstein garantiert ein ruhiges Sieden. Zu der lebhaft kochenden Lösung läßt man aus einer Bürette den verdünnten Harn rasch, jedoch nicht so, daß die Mischung aus dem Kochen gerät, zulaufen, bis sich ein kalkweißer Niederschag bildet, von da ab langsamer (ca. alle 30 Sekunden 1—2 Tropfen) bis die blaue Farbe verschwunden ist. Da die Flüßigkeit dauernd im Sieden erhalten werden soll, versieht man am besten die Bürette mit einem Kautschukschlauch und einem Quetschhahn um durch diese Verlängerung die Bürette vor stärkerer Erwärmung zu bewahren und die Zuckerlösung durch den biegsamen Schlauch bequemer in den Kolben fließen lassen zu können.

Zuerst führt man eine Probetitration aus. Sollte bei dieser die Abscheidung des weißen Niederschlags, wie wir es häufig bemerkten, nicht deutlich eintreten, oder erst knapp vor dem Endpunkt erscheinen, so läßt man bei einer zweiten Probe etwas weniger Zuckerlösung resp. Harn auf einmal zulaufen, und titriert unter zeitweiligen aber nur leichten Umschwenken weiter, bis der Endpunkt erreicht ist. Bei allzu langem Kochen oder bei zu reichlichem Zufluß von Zuckerharn färbt sich der Niederschlag gelb bis bräunlich.

Bereits C. Myers und Spiro haben die Benedict'schen Lösungen zum Zuckernachweis geprüft und auf die Brauchbarkeit der Benedict'schen Methode in der Praxis hingewiesen. Es war mir die Aufgabe zugeteilt ebenfalls zu dieser Methode Stellung zu nehmen.

I. Qualitativer Dextrose-Nachweis nach der Benedict'schen Methode.

a) in reinen Dextroselösungen.

Es wurde unter Benützung der Analysenwage eine genaue 5% Stammlösung hergestellt, und aus dieser die weiteren Verdünnungen bereitet. Von diesen Verdünnungen wurden wiederum wechselnde Mengen (0,5 ccm, 0,25 ccm, 0,1 ccm) zu je 5 ccm Reagens zugesetzt. Bei Verwendung reiner Dextrose-Lösungen bildet sich noch während des Kochens ein roter Niederschlag von Cu_2O, wenn der Dextrosegehalt über 0,2% beträgt — falls hievon 0,5 ccm Dextroselösung und 5 ccm Reagens vermengt werden. Bei diesem Gehalt, bezw. unter demselben bildet sich der rote Niederschlag erst während, oder nach dem Erkalten. Erst unter 0,05% Dextrose bildet sich auch nach längerem Stehen kein Niederschlag mehr.

In den Tabellen sind neben der Angabe des Dextrosegehaltes der verwendeten Lösungen (resp. des Harns) in Prozenten und der Menge der den 5 ccm Reagens zugesetzten Lösung (resp. Harn) in ccm auch die Dextrosekonzentration angegeben, welche nach der Mischung von Lösung (resp. Harn) und Reagens bestehen. Es geschah dies aus dem Grunde, weil der Zusatz der dextrosehaltigen Lösung zu dem Reagens nicht jedesmal 0,5 ccm betrug, wie es der Vorschrift entspräche, sondern variiert wurde. Es zeigte sich hiebei, daß es beim Verlaufe der Reaktion nur auf die Dektrosekonzentration im Gemenge ankommt.

Concentration der Dextroselösung in Prozenten.	Zugesetzte Menge des Reagens in ccm.	Dextrose Concentration nach Mischung mit dem Reagens in Prozenten (abgerundete Zahlen).	Erfolg
5	0,5	0,5	Sofort roter Niederschlag
1	0,5	0,1	„ „ „
1	0,25	0,05	„ „ „
1	0,1	0,02	Beim Erkalten roter Niederschlag.
0,5	0,5	0,05	Sofort roter Niederschlag
0,5	0,25	0,025	Beim Erkalten roter Niederschlag.
0,5	0,1	0,01	„ „
0,2	0,5	0,02	„ „
0,2	0.25	0,01	„ „
0,2	0,1	0,004	Keine Aenderung.
0,1	0,5	0,01	Beim Erkalten roter Niederschlag.
0,1	0,25	0.05	„ „
0,04	0,5	0,004	Keine Aenderung.

b) In Harnen mit Dextrosezusatz.

Bei Verwendung von Harn mit Dextrosezusatz liegen die Verhältnisse ganz analog. Jedoch variiert die rote Farbe des Niederschlags, anscheinend beeinflußt durch Harnfarbstoffe, von orangegelb über gelb, gelb-grün bis blau-grün. Unter 0,05% Dextrose bildet sich auch nach längerem Stehen kein Niederschlag mehr, es treten nur mehr grüne, blau-grüne oder gelb-grüne Verfärbungen auf, die in zuckerfreiem Harn kaum vorkommen und somit, wenn sie auch nicht für Zucker beweisend sind, doch den Verdacht darauf nahelegen.

Dextrosegehalt in Prozenten.	Harn mit zugesetzte Harnmenge in ccm.	Dextrosezusatz Dextrose-Concentration nach Mischung mit dem Reagens in Prozenten.	Erfolg.
0,25	0,5	0,025	Grüne Verfärbg. u. sofort gelber Niederschlag.
0,25	0,25	0,013	Grüne Verfärbung, gelber Niederschlag erst beim Erkalten.
0,25	0,1	0,005	Grüne Verfärbung und Niederschlag erst beim Erkalten.
0,166	0,5	0,017	„ „ „ „
0,166	0,25	0,085	„ „ „ „
0,166	0,1	0,003	„ „ „ „
0,125	0,5	0,013	„ „ „ „
0,125	0,25	0,006	„ „ „ „
0,125	0,1	0,003	Keine Aenderung.
0,1	0,5	0,01	Grüne Verfärbung.
0,1	0,25	0,005	„ „
0,084	0,5	0,008	„ „
0,084	0,25	0,004	„ „
0,071	0,5	0,007	„ „
0,071	0,25	0,004	Erst beim Erkalten blau-grüne Verfärbung.
0,062	0,5	0,006	Blau-grüne Verfärbung.
0,062	0,25	0,003	Erst beim Erkalten blau-grüne Verfärbung,
0,055	0,5	0,005	Blau-grüne Verfärbung.
0,055	0,25	0,003	Keine Aederung.
0,050	0,5	0,005	Erst beim Erkalten blau-grüne Verfärbung.
0,045	0,5	0,005	„ „ „

In diabetischen Harnen verläuft die Reaktion in gleicher Weise, wie in Harn mit Dextrosezusatz, insbesondere was die Grenzen des Nachweises anbetrifft. Ich erwähne das deshalb, weil beim Nachweis nach Trommer die Ausscheidung von Kupferoxydul in diabetischen Harnen bei niedereren Prozenten (ungefähr 0,2%) Zuckergehalt erfolgt, als bei Harnen, denen Dextrose zugesetzt wurde, was sich daraus erklärt, daß diabetischer Harn wasserreich ist, und deshalb die Kupferoxydul in Lösung haltenden Substanzen relativ vermindert sind. Die Farbe des Niederschlags ist in diabetischen Harnen nicht rein gelb sondern orange. Wenn es zu keiner Bildung von Niederschlag mehr kommt, sind die Verfärbungen des Harns mehr oliv-grün, als blau-grün (wie bei den normalen Harnen mit Dextrosezusatz).

II. Quantitativer Dextrose-Nachweis.

a) In reiner Dextroselösung.

In einer genau hergestellten 0,5% Dextroselösung wurde nach Allihn (gewichtsanalytische Methode), Fehling, Bang und Benedict der Zuckergehalt ermittelt, und zwar wurden nach jeder Methode eine Anzahl Analysen ausgeführt

Es ergab sich nach:

Allihn:	0,504%	0,491%	0,485%	0,485%	0,494%
Fehling	0,54%	0,51%	0,54%	0,51%	0,54%
	0,54%	0,57%			
Bang:	0,51%	0,52%	0,52%	0,52%	0,53%
Benedict:	0,45%	0,46%	0,50%	0,52%.	

Aus diesen Ergebnissen wiederum gezogene Mittelwerte gibt die folgende Tabelle:

Allihn	Fehling	Bang	Benedict
0,492	0,54	0,52	0,48

Hieraus ist zu ersehen, daß die Benedict'sche Methode Werte liefert, die jenen der Allihn'schen (gewichtsanalytischen Methode) am nächsten kommen, und somit, da letztere in reinen Dextroselösungen exakte Werte liefert, als sehr genaue Methode zu betrachten ist. Die Werte nach Fehling und Bang liegen höher.

b) In normalen Harnen mit Dextrosezusatz.

Die Harne wurden vor dem Dextrosezusatz unverdünnt auf ihre reduzierenden Eigenschaften nach Bang geprüft, dann wurde Dextroselösung von bekanntem Gehalt zugefügt und nach der Methode von Fehling, Bang und Benedict titriert.

Harn I

Nach Bang betrug die Menge der reduzierenden Substanzen vor Zusatz der Dextrose 0,23% (Mittelwert aus einer Reihe von Bestimmungen).

Nach Dextrosezusatz in einer Menge, daß der Harn 0,1% Dextrose enthielt, betrugen die gesamten reduzierenden Substanzen titriert nach

Fehling: 0,19% 0,20% 0,20% 0,21%.
Bang: 0,34% 0,35% 0,36%.
Benedict: 0,22% 0,22% 0,23% 0,23% 0,24%.

Harn II

Nach Bang betrug die Menge der reduzierenden Substanzen vor Zusatz des Zuckers 0,22% (Mittelwert).

Nach Dextrosezusatz in einer Menge, daß der Harn 0,1% Dextrose enthielt betrugen die gesamten reduzierenden Stroffe titriert nach

Bang: 0,32% 0,33% 0,33%.
Benedict: 0,22% 0,22% 0,23% 0,23% 0,23%.

Harn III

Nach Bang betrug die Menge der reduzierenden Substanzen vor Zusatz der Dextrose 0,32% (Mittelwert).

Nach Dextrosezusatz in einer Menge, daß der Harn 0,13% Dextrose enthielt, betrugen die gesamten reduzierenden Stoffe titriert nach

Fehling: 0,23% 0,23% 0,24% 0,24%.
Bang: 0,45% 0,45%.
Benedict: 0,27% 0,28% 0,29% 0,31%.

Harn IV

Nach Bang betrug die Menge der reduzierenden Substanzen vor Zusatz der Dextrose 0,26% (Mittelwert).

Nach Dextrosezusatz in einer Menge, daß der Harn 0,15% enthielt, betrugen die gesamten reduzierenden Stoffe titriert nach

Fehling: 0,22% 0,23% 0,25% 0,25%.
Bang: 0,38% 0,38% 0,39%.
Benedict: 0,24% 0,26% 0,26% 0,27% 0,27%.

Harn V

Nach Bang betrug die Menge der reduzierenden Substanzen vor Zusatz der Dextrose 0,40% (Mittelwert).

Nach Dextrosezusatz in einer Menge, daß der Harn 0,2% enthielt betrugen die gesamten reduzierenden Substanzen titriert nach

Fehling:	0,31%	0,31%	0,31%	0,32%	0,33%.
Bang:	0,56%	0,56%	0,56%	0,57%.	
Benedict:	0,38%	0,38%	0,39%	0,39%	0,39%.

In der folgenden Tabelle sind von den verschiedenen Analysenwerten die berechneten Mittelwerte angegeben. Diese stellen den Wert für die gesamten reduzierenden Substanzen, somit nicht nur ausschließlich den der Dextrose dar. Inwieweit nun die normal vorhandenen reduzierenden Substanzen die Bestimmung der Dextrose in normalen Harnen (unter 1023 spez. Gewicht) mit Dextrosezusatz beeinflussen, davon kann ein Bild gewonnen werden, wenn man von den gefundenen Werten, den auf die Dextrose fallenden, der ja genau bekannt ist, abzieht. Die auf diese Weise gefundenen Differenzen sind in der folgenden Tabelle in Klammern angegeben. Da diese Substanzen den Wert der normal vorhandenen reduzierenden Substanzen repräsentieren, ersieht man, daß sie bei der Methode nach Fehling am geringsten in Erscheinung treten, also auch am wenigsten den wirklichen Dextrosewert beeinflussen, während sie nach der Methode von Bang am wirksamsten erscheinen. Eine Mittelstellung nimmt die Benedict'sche Methode ein.

Dextrosezusatz in Prozent.	Reduktion nach Dextrosezusatz.		
	Fehling.	Bang.	Benedict.
0,1	0,20 (0,10)	0,35 (0,25)	0,24 (0,14)
0,1		0,33 (0,23)	0,23 (0,13)
0,13	0,24 (0,11)	0,45 (0,32)	0,28 (0,15)
0,15	0,24 (0,09)	0,38 (0,38)	0,26 (0,11)
0,2	0,32 (0,12	0,56 (0,32)	0,39 (0,19)

c) in Fieberharnen, welchen nach Verdünnung mit dest. Wasser Dextrose zugesetzt wurde.

In den folgenden Bestimmungen wurden Harne von spez. Gewicht über 1026 verwendet. Der Harn wurde mit dest. Wasser verdünnt und Dextrose-Lösung von bekanntem Gehalte zugefügt. Nach jeder Methode wurden jeweils mehrere Titrationen ausgeführt.

Harn I

Der Harn vom spez. Gew. 1027 wurde mit dest. Wasser im Verhältnis 1:1 verdünnt und mit Dextroselösung auf einen Zuckergehalt von 0,1% gebracht. Die gesamten reduzierenden Substanzen betrugen in der Verdünnung titriert nach

Fehling:	0,13%	0,13%	0,14%	0,14%	0,14%.
Bang:	0,25%	0,25%	0,25%.		
Benedict:	0,17%	0,18%	0,18%	0,19%	0,19%.

Harn II

Der Harn vom spez. Gew. 1028 wurde wie vorher im Verhältnis 1:1 verdünnt und mittels Dextroselösung auf einen Zuckergehalt von 0,15% gebracht. Die gesamten reduzierenden Substanzen betrugen titriert nach

Bang:	0,29%	0,29%	0,29%.		
Benedict:	0,21%	0,22%	0,22%	0,23%	0,23%.

Harn III

Der Harn vom spez. Gew. 1027 wurde wie vorher im Verhältnis 1:1 verdünnt und mittels Dextroselösung auf einen Dextrosegehalt von 0,15% gebracht. Der Wert der gesamten reduzierenden Substanzen betrug titriert nach

Benedict:	0,21%	0,21%	0,22%	0,22%	0,23%	0,23%.
Bang:	0,30%	0,30%	0,31%	0,31%.		

Harn IV

Der Harn vom spez. Gew. 1028 wurde im Verhältnis 1:1 verdünnt und mit Dextroselösung auf einen Gehalt von 0,15% gebracht. Der Wert der gesamten reduzierenden Substanzen betrug nach

Fehling:	0,20%	0,20%	0,21%	0,23%	0,23%.
Bang:	0,28%	0,28%	0,29%.		
Benedict:	0,20%	0,20%	0,21%	0,21%	0,22%.

Wiederum seien die Mittelwerte tabellarisch zusammengefaßt. Die Zahlen in Klammern geben die Differenz zwischen den gesamten reduzierenden Substanzen und dem wirklichen Dextrosegehalt an.

Verdünnung	Dextrosezusatz nach der Verdünnung in %	Bestimmung der gesamten reduzierenden Substanzen.		
		Fehling.	Bang.	Benedict.
1 : 1	0,1	0,14 (0,13)	0,25 (0,15)	0,18 (0,08)
1 : 1	0,15		0,29 (0,14)	0,22 (0,07)
1 : 1	0,15		0,30 (0,15	0,22 (0,07)
1 : 1	0,15	0,21 (0,06)	0,29 (0,14)	0,20 (0,05)

d) In diabetischen Harnen.

Harn I

Der Harn hatte ein spez. Gew. von 1021. Er wurde zunächst unverdünnt, dann im Verhältnis 1 : 1 mit dest. Wasser verdünnt, nach Bang und Benedict geprüft. Der Wert der reduzierenden Substanzen betrug im unverdünnten Harn titriert nach

Bang: 0,27% 0,27% 0,27% 0,28% 0,28%.
Benedict: 0,17% 0,17% 0,18% 0,18%.

Nach der Verdünnung 1 : 1 betrugen die reduzierenden Substanzen titriert nach Bang: 0,09% 0,09% 0,09%, somit auf den unverdünnten Harn berechnet: 0,18% 0,18% 0,18%; nach Benedict: 0,07% 0,08% 0,08%, somit auf den unverdünnten Harn berechnet: 0,14% 0,16% 0,16%.

Harn II

Der Harn vom spez. Gew. 1022 wurde unverdünnt nach Bang und Benedict geprüft. Es fanden sich an reduzierenden Substanzen nach

Bang: 0,24% 0,24% 0,24%.
Benedict: 0,16% 0,16% 0,17%.

Nach Verdünnung im Verhältnis 5 : 1 fanden sich an reduzierenden Substanzen nach Bang 0,19% 0,19% 0,19% 0,20% somit auf den unverdünnten Harn berechnet 0,22% 0,22% 0,22% und 0,23%;
nach Benedict: 0,14% 0,14% 0,14% 0,13%;
somit auf den unverdünnten Harn berechnet: 0,17% 0,17% 0,17% 0,15%.

In der folgenden Tabelle seien wiederum die Mittelwerte angeführt. Die bei den verdünnten Harnen in Klammern angegebenen Zahlen sind die auf den unverdünnten Harn berechneten Werte:

Verdünnung.	Bang.	Benedikt.
Harn I		
unverdünnt	0,28	0,18
1 : 1	0,09	0,08
	(0,18)	(0,15)
Harn II		
unverdünnt	0,24	0,16
5 : 1	0,19	0,14
	(0,22)	(0,17)

Wiederum liegen die nach Bang gefundenen Werte bei unverdünnten Harnen höher, als die nach Benedict gefundenen. Werden die Harne verdünnt, so kann der Wert nach Bang weit stärker sinken als es der Verdünnung entspricht, und kann sogar unter den nach Benedict liegen.

Da die Benedict'sche Methode in Harnen mit Dextrosezusatz gute Resultate lieferte und sich als brauchbar erwies, so dürfte bei dextrosehaltigen Harnmengen, die eine Verdünnung des Harnes nicht gestatten, der Benedict'sche Zuckernachweis entsprechendere Zahlen liefern, als der Bang'sche.

e) In diabetischen Harnen mit Serumzusatz.

Harn I

Der diabetische Harn vom spez. Gew. 1024 wurde unverdünnt nach Benedict auf seinen Zuckergehalt geprüft. Es fand sich: 0,89% 0,89% 0,91%.

Nach Verdünnung im Verhältnis 1 : 1 fand sich: 0,42% 0,41%, somit auf den unverdünnten Harn berechnet: 0,82% 0,82% 0,84%.

Nach Zusatz von 1 ccm Rinderserum auf 50 ccm Harn (somit einer Eiweißkonzentration von ca. 0,14% entsprechend) fand sich bei Verdünnung im Verhältnis 1 : 1 : 0,42% 0,42% 0,41%. Somit auf den unverdünnten Harn berechnet: 0,82% 0,84% 0,84%.

Harn II

Der diabetische Harn vom spez. Gew. 1025 wurde im Verhältnis 1 : 1 verdünnt nach Benedict auf Zucker geprüft. Es fand sich: 0,44% 0,44% 0,44%, somit auf den unverdünnten Harn berechnet 0,88%.

Darauf wurde Rinderserum in der gleichen Menge wie bei Harn I zugesetzt und wieder geprüft. Es fand sich: 0,43% 0,43%

0,44%, somit auf den unverdünnten Harn berechnet 0,86% 0,86% 0,88%

Hieraus ist zu ersehen, daß Eiweißmengen bis etwa 0,2% keinen störenden Einfluß auf die Bestimmung der reduzierenden Substanzen nach Benedict haben, und diese Zuckerprobe im Harn angestellt werden kann, ohne daß vorher diese Mengen entfernt werden brauchen.

Zusammenfassung:

Die Benedict'sche Methode zum qualitativen Nachweis von Zucker im Harn erweist sich als brauchbar.

In reinen Dextroselösungen, sowie in Harnen mit Dextrosezusatz, fällt — wenn die Reaktion in der Weise ausgeführt wird, daß 0,5 ccm der zuckerhaltigen Flüssigkeit mit 5 ccm Reagens gemischt werden rotes Kupferoxydul, resp. gelbes Kupferoxydulhydrat während des Kochens aus, und zwar bis zur Konzentration von 0,2% Dextrose. Unter dieser Menge bildet sich der Niederschlag erst nach dem Erkalten. Die Grenze, bei der kein Niederschlag sich mehr bildet liegt bei 0,05%. Unter dieser Dextrosekonzentration treten in zuckerhaltigen Harnen noch Verfärbungen ein, die in normalen Harnen nicht vorkommen und wenigstens ein Zeichen dafür sind, daß der Harn auf Zucker verdächtig ist.

Ebenso brauchbar ist die quantitative Methode nach Benedict. Die Anwesenheit von Eiweiß jedenfalls in Menge von 1,4% beeinflußt die Methode nicht.

Gegenüber der Fehling'schen Methode hat sie folgende Vorteile:

a) es ist nur eine einzige Lösung notwendig, die gut haltbar ist,

b) während bei Fehling, um richtige Werte zu erhalten, diejenige Menge Zuckerlösung zu finden ist, die, auf einmal zugesetzt, das vorhandene Kupferhydroxyd eben vollständig reduziert, ist bei der Benedict'schen Methode der allmähliche Zusatz der Zuckerlösung bis zum Eintritt der vollständigen Reaktion, erlaubt.

c) der Endpunkt der Titration nach Benedict ist, da das Oxyd als weißer Niederschlag ausfällt, leichter bestimmbar, als bei der Methode nach Fehling.

Gegenüber der Bang'schen Methode hat die nach Benedict den Vorteil, daß in verdünnten Harnen die normal vorhandenen reduzierenden Substanzen weit weniger stören resp. weniger zur Geltung kommen.

Jedoch ist hervorzuheben, daß die Methode gegenüber Bang doch einen Rückschritt bedeutet.

Bang war bemüht, um die Beurteilung des Endpunktes der Titration exakt zu bestimmen, die Bildung eines Niederschlags ganz hintanzuhalten. Ferner liegt gerade in der Rücktitration des im Ueberschusse der zuckerhaltigen Lösung zugesetzten Kupferoxyds eine Maßnahme, die eine exakte Bestimmung des Endpunktes der Titration sichert.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. von Tappeiner für freundliche Ueberlassung des Themas, und Herrn Prof. Dr. Jodlbauer für sein großes Interesse und weitgehendste Förderung meiner Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Literatur.

Abderhalden: Lehrbuch der physiologischen Chemie. Aufl. 2. 1909.

Bang: Biochemische Zeitschrift Bd. 2. 1907.

— Ibid. Bd .11. 1908.

— Ibid. Bd. 32. 1911.

— Cit. nach Biochemisches Zentralblatt. Bd. 5. 1906/07.

Benedict: Journal of biological chemistry. Bd. 3. 1907.

— Ibid. Bd. 5. 1909.

Guttmann: Medizinische Terminologie. Aufl. 2. 1906.

Grave. Inaugural-Dissertation Ueber die E. Merck'schen Reagenstabellen und die optische Methode von Autenrieth zur quantitativen Bestimmung von Traubenzucker. München 1911.

Jessen-Hansen: Biochemische Zeitschrift. Bd. 10. 1908.

Neubauer-Huppert: Analyse des Harns. Bd. 1. 1900. Bd. 2. 1913.

Ost: Cit. nach: Berichte der deutschen chem. Gesellschaft. Bd. 2. 1890. Jahrgang 23.

Soldaini: Cit. nach: Fortschritte der Tierchemie. 1877.

— Cit. nach: Fortschritte der Thierchemie. 1889.

Striegler: Cit. nach: Chem. Zentralblatt. Bd. 2. 1889.

Spiro: In Neubauer-Huppert Analyse des Harns. Bd. 2. Anhang.

Wein: Tabellen zur quantitativen Bestimmung der Zuckerarten. 1888.

Lebenslauf.

Ich, Wilhelm Wimmer, bin geboren am 9. September 1886 zu Prag als Sohn des Majors Wilhelm Wimmer. Nach Besuch der Gymnasien zu Baden-Baden und Dillenburg in Hessen-Nassau erlangte ich im Jahre 1906 in Dillenburg das Zeugnis der Reife. Sodann bezog ich, um Medizin zu studieren, die Universität in München, dann die Universität in Freiburg in Baden, wo ich im Jahre 1909 das Physikum begann, es im gleichen Jahre an der Universität in München fortsetzte und bestand. Bis zum Jahre 1913 studierte ich an der Universität in München, wo ich im Jahre 1913 das medizinische Staatsexamen bestand.